Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität
im Universitäts-Krankenhaus Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Keeser)

Zur Wirkungsweise von Nitrit- und Nitroverbindungen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
zahnärztlichen Doktorwürde
der
Medizinischen Fakultät
der
Hansischen Universität zu Hamburg

vorgelegt von

Waldemar Haase
Zahnarzt
aus Rotenburg (Hann.)

HAMBURG 1938

H. Schimkus, Hamburg 36, Gänsemarkt 35

Referent: Prof. Dr. K e e s e r

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Hamburgischen Universität.

Nitrite wirken u.a. gefäßerweiternd. Die Einatmung von 3-5 Tropfen Amylnitrit in Dampfform erzeugt z.B.sofort eine flammende Rötung des Gesichts und in abnehmendem Masse auch des Halses und der Brust, begleitet von einem Gefühl von Hitze im Kopfe. Die Ursache dieser rasch vorübergehenden, dem Erröten bei psychischen Affekten ähnlichen Erscheinung ist die starke Erweiterung der Arterien aller Organe der oberen Körperhälfte, soweit sie dem großen Kreislauf zugehören. In größeren Dosen kommt es auch zu einer direkten Erschlaffung der Gefässwände.*)

Um die Ursache dieser Wirkungen der Nitrite genauer kennen zu lernen und festzustellen, ob sie auf nervösem oder auf muskulärem Wege zustande kommen, wurden folgende Versuche durchgeführt:

I. Versuche am Blutegel.

Von einem Blutegel wurde durch sorgfältiges Abpräparieren sämtlicher Nerven und Eingeweide ein reines Muskelpräparat hergestellt und dieses in 3oo ccm Frosch-Ringer (= 3oo ccm Thyrode + 15o ccm Aqua dest. + 3 ccm Natriumbikarbonat 5 proz.) aufgehängt, wobei sein oberes Ende mit einem Schreibhebel verbunden wurde, der die Bewegungen des Muskels auf einem Kymographion aufzeichnete. Der Froschringerlösung wurden sympathisch bezw. parasympathisch wirkende Substanzen zugesetzt.

1.) 2o mg Acetylcholin bewirkten einen kräftigen Tonusanstieg, der unverändert anhielt. Nach dem Auswaschen wurde die Rückkehr des Muskels zur Ruhelage abgewartet; darauf wurden 2o mg Acetylcholin + 5 mg Amylnitrit zugegeben. Der Tonusanstieg war auch hierbei deutlich, aber erheblich geringer als vorher; auch setzte der Tonusanstieg später ein.- Eine leichte Tonuszunahme bewirkte auch Zusatz von 15 ccm Amylnitrit in einer 1 proz. Lösung.

2.) 5 mg $NaNO_2$ + 2o mg Acetylcholin riefen eben-

*) Tappeiner: Arzneimittellehre 1o.Aufl.,1913, S.31o.

falls einen kräftigen Tonusanstieg hervor, der sehr lange anhielt. Ohne vorher auszuwaschen, wurden weitere 3o mg $NaNO_2$ zugesetzt. Es zeigte sich keine sichtbare Wirkung. Nach dem Auswaschen und Wiedereintritt der Ruhelage wurden 2o mg Acetylcholin zugefügt. Hierauf erfolgte ein deutlicher, sofortiger und anhaltender Tonusanstieg, der aber im Vergleich zur Anfangswirkung bedeutend geringer war. Nach nochmaligem Auswaschen wurden 2o mg Acetylcholin und 5 mg $NaNO_2$ zugesetzt. Es trat die gleiche Wirkung wie nach dem ersten Auswaschen ein. Ohne auszuwaschen, wurden dann nacheinander 5o mg $NaNO_2$ und 2o mg Acetylcholin hinzugefügt, die sich wirkungslos zeigten.

3.) lo mg Acetylcholin riefen eine sofortige deutliche Tonuszunahme hervor mit allmählicher Rückkehr zur Norm. Nach dem Auswaschen wurden 3o mg $NaNO_2$ sowie nach einiger Zeit ohne vorheriges Auswaschen lo mg Acetylcholin zugesetzt. Es erfolgte keine Tonuszunahme. Nach dem Auswaschen wurden lo mg Acetylcholin zugefügt, die wieder einen ganz geringen Tonusanstieg bewirkten, jedoch wurde die Norm sehr schnell wieder erreicht. Nach nochmaligem Auswaschen wurden nochmals lo mg Acetylcholin zugesetzt. Die Tonuszunahme war hierbei etwas deutlicher als vorher. Nach erneutem Auswaschen wieder Zugabe von lo mg Acetylcholin. Es erfolgte eine deutliche Zunahme des Tonus, die Anfangswirkung wurde jedoch nicht erreicht.

4.) Nach Zugabe von 2o mg Acetylcholin erfolgte deutlicher Tonusanstieg, der lange anhielt. Nach dem Auswaschen wurden 3o mg $NaNO_2$ und nach einiger Zeit, ohne auszuwaschen, 2o mg Acetylcholin zugegeben. Es erfolgte ein ganz geringer und allmählicher Tonusanstieg. Die Lähmung des Muskels durch $NaNO_2$ war deutlich sichtbar. Dann wurde zweimal hintereinander die Froschringerlösung erneuert und 2o mg Acetylcholin hinzugesetzt: der Tonusanstieg war wieder deutlicher und erfolgte schneller als bei Gegenwart von $NaNO_2$. Das gleiche Ergebnis zeigte sich nach nochmaligem Auswaschen und Zusatz von 2o mg Acetylcholin. Die Stärke der Anfangswirkung wurde aber nicht mehr erreicht.

5.) Nach Zusatz von 2o mg Acetylcholin erfolgte

sofortige starke Tonuszunahme, die allmählich wieder abnahm. Nach dem Auswaschen wurden 2o mg $NaNO_2$ und ohne erneut auszuwaschen, nach einiger Zeit noch 1o mg Acetylcholin zugesetzt. Hierbei erfolgte ein sofortiger, aber geringerer Tonusanstieg als zu Beginn des Versuches sowie ein schnell eintretender, aber allmählicher Abfall.

6.) Bei Zusatz von Sympatol (1 : 25o) + 5 mg Amylnitrit trat eine leichte Tonuszunahme ein. Nach dem Auswaschen wurden Sympatol (1:25o) sowie Alkohol in der Menge, die in der verwendeten Amylnitritlösung enthalten ist, zugesetzt. Es erfolgte hierbei eine sofortige, starke Tonuszunahme. Nach nochmaligem Auswaschen wurde wieder Sympatol (1:25o) + 5 mg Amylnitrit hinzugefügt; hierbei wurde keine Wirkung sichtbar.

7.) Nach Zusatz von Sympatol (1:25o) trat ein deutlicher, sofort einsetzender, langsamer Tonusanstieg ein, der anhielt und allmählich wieder abfiel. Nach dem Auswaschen wurden 2o mg $NaNO_2$ zugesetzt. Es trat anfangs keine sichtbare Wirkung auf, nach einiger Zeit jedoch erfolgte Tonusabfall. Während des Abfalls wurde erneut Sympatol (1:25o) zugefügt, worauf der Abfall schlagartig aufhörte. Ein Tonusanstieg trat jedoch nicht ein. Nach wiederholtem Auswaschen zeigte Zusatz von Sympatol (1:25o) keine Wirkung mehr.

8.) Nach Zusatz von Sympatol (1:5oo) erfolgte ein ganz geringer und allmählicher Tonusanstieg. Nach dem Auswaschen wurden 1o mg $NaNO_2$ zugegeben. Hierauf trat keine sichtbare Wirkung ein. Auch bei erneutem Zusatz von Sympatol (1:5oo) zeigte sich keine Wirkung mehr.

Die Versuche zeigten somit, dass das Muskelpräparat des Blutegels durch $NaNO_2$ stark geschädigt wurde, so dass in keinem Fall die Höhe des Tonusanstieges nach Zusatz von Acetylcholin bezw. Sympatol erreicht wurde, die bei Zusatz gleicher Mengen der genannten Substanzen vor der Einwirkung von $NaNO_2$ bei diesem Muskelstück erreicht worden war. Stets war der Tonusanstieg geringer, oder der Muskel sprach auf Acetylcholin bezw. Sympatol überhaupt nicht mehr an. Die Annahme von M a y e r und Friedrich *), daß die

*)Heffter:Handbuch der Pharmakologie Bd.I,1923,S.841.

gefäßerweiternde Wirkung der Nitrite eine rein periphere auf die Muskulatur der Gefäßwände ist, erfuhr durch unsere Ergebnisse eine gewisse Bestätigung.

II. Versuche an Hunden.

Bei diesen Versuchen wurden zwei parallel laufende Versuchsserien durchgeführt. Zunächst wurde bei normal gefütterten Tieren Adrenalin bezw. Acetylcholin, deren Dosis allmählich erhöht wurde, intravenös injiziert. Die gleichen Versuche wurden dann an Hunden angestellt, die während einer längeren Zeitspanne täglich o,1 g Na-Nitrit per os erhalten hatten. Anfangs wurden die Injektionen am narkotisierten Tier durchgeführt. Um jedoch die infolge der Narkose möglicherweise eintretenden Aenderungen der Reaktionsweise auszuschalten, wurde später ohne vorhergehende Narkose injiziert.

1.) Bei einem Hunde wurden in Narkose 15 ccm Adrenalin (1:1ooo) = o,5 mg /kg Körpergewicht intravenös injiziert. Sofort setzte erhöhter Speichelfluß ein, die Zunge wurde leicht zyanotisch und die Atmung flach und schnaufend. 3o Minuten nach der Injektion reagierte das Tier nicht mehr auf Rufen, Perioden rascher Atmung wechselten mit solchen langsamerer Atmung. Im Verlauf der nächsten 15 Minuten wurde die Atmung wieder gleichmässiger und blieb dann flach und etwas hechelnd. Am nächsten Tage war das Tier vormittags noch etwas benommen; um 14 Uhr trat eine merkliche Besserung im Befinden des Tieres ein.

Zwei weiteren Hunden wurden 2 mg Adrenalin/kg Körpergewicht intravenös injiziert. Nach sofort einsetzendem starken Brechreiz mit anschließendem Erbrechen und starker Dyspnoe erfolgte bei einem Tier nach 12 Minuten der Exitus, während das zweite Tier unter den gleichen Erscheinungen nach 45 Minuten zum Exitus kam. Bei beiden Tieren trat während der intravenösen Injektion eine starke Quaddelbildung an der Stelle der Injektion auf. Dies dürfte auf die hohe Konzentration des Adrenalins zurückzuführen sein.

Die intravenöse Injektion von 1,5 mg Adrenalin/kg Körpergewicht rief bei einem Hund nach 2 Minuten

starken Brechreiz hervor, die Atmung war vorüberge - hend schnell und unregelmässig. Im Verlauf einer Stunde erholte sich das Tier wieder vollkommen. Quaddelbildung trat ebenfalls an der Injektionsstelle auf wenn auch in geringerem Masse als bei der Injektion von 2mg Adrenalin/kg Körpergewicht.

In einem weiteren Versuch wurde einem Hund 1 mg Adrenalin/kg Körpergewicht intravenös injiziert. Es traten die gleichen Erscheinungen, wie sie vorste - hend geschildert wurden, auf; nur waren sie in ihrem Ablauf weniger heftig. Quaddelbildung zeigte sich hierbei nicht.

2.) Insgesamt vier Hunden, die 1o Tage hindurch täglich o,1 mg Na-Nitrit per os erhalten hatten, wurde Adrenalin in gleicher Menge wie den unter 1.) aufgeführten Tieren intravenös injiziert. Während sich bei den normal gefütterten Tieren 2 mg Adrenalin/kg Körpergewicht als letale Dosis erwiesen hatte, trat bei den durch Na-Nitrit vergifteten Hunden kein tötlicher Ausgang ein; auch waren die Vergiftungserscheinungen (Brechreiz, Erbrechen, Zyanose der Zunge und Veränderung der Atmung) bedeutend geringer. Quaddelbildung erfolgte bei diesen Tieren in keinem Fall.

Es zeigte sich somit, dass die mit Na-Nitrit vergifteten Hunde im Vergleich mit den normalen Tieren weniger stark auf Adrenalin reagierten.

3.) Nach intravenöser Injektion von 1 mg Acetylcholin/kg Körpergewicht erfolgten sofort starke Krämpfe des Intestinaltraktus, die zwei Stunden lang andauerten.

Nach 2 mg Acetylcholin/kg Körpergewicht stell - ten sich ausserdem starker Speichelfluss und hefti - ges Zittern ein.

Nach 2o mg Acetylcholin/kg Körpergewicht sowie nach 3o mg Acetylcholin/kg Körpergewicht verstärkten sich die Darmkrämpfe erheblich; nach 4o mg Acetyl - cholin/kg Körpergewicht wurde ausserdem Galle erbrochen, desgleichen erfolgte Kot- und Urinabgang. Ein letaler Ausgang trat in keinem Fall ein.

4.) Insgesamt drei mit Na-Nitrit vergifteten Hunden wurde in steigender Dosis, wie unter 3. ge - schildert, Acetylcholin intravenös injiziert. Es zeig-

ten sich zwar sofort einsetzende Darmkrämpfe, leichte Benommenheit der Tiere und etwas erhöhter Speichelfluss, jedoch erholten sich die Tiere rasch ohne sichtbare Nachwirkungen.

Auch gegen Acetylcholin scheinen somit die während einer längeren Zeit mit Na-Nitrit gefütterten Hunde widerstandsfähiger zu sein als normale Tiere.

5.) Weiter wurde bei zwei normalen Hunden täglich mit der Riva-Rocci-Manschette der Blutdruck in der Arteria femoralis festgestellt. Nachdem so der Normalwert festgestellt worden war, wurde bei einem Tier 1 ccm Adrenalin (1:1000) und bei dem anderen Tier 1 ccm Acetylcholin = 0,1 g subkutan injiziert. Dann erhielten beide Tiere 3 mg Dinitrophenol/kg Körpergewicht subkutan. Am folgenden Tage wurde wieder der Blutdruck gemessen (ohne sowie nach Injektion von Adrenalin bezw. Acetylcholin).

a. Hund Nr. 29. 17,5 kg Körpergewicht.

Bei täglich vormittags und nachmittags angestellten Blutdruckmessungen wurde als Blutdruckwert in der Arteria femoralis 88 mm Hg ermittelt. Nach der subkutanen Injektion von 1 ccm Adrenalin (1:1000)ergaben die in Abständen von 5 Minuten erfolgten Messungen folgende Werte in mm Hg:

98, 100, 102, 100, 90, 89

Der Blutdruck stieg somit im Verlauf der ersten 10 Minuten an, bewegte sich dann um 100 mm Hg und fiel nach 30 Minuten wieder zum Normalwert ab.

Nach subkutaner Injektion von 52,5 mg Dinitrophenol (= 3 mg/kg Körpergewicht) wurde am folgenden Tage erneut 1 ccm Adrenalin (1 : 1000) subkutan injiziert, wobei folgende Werte in Abständen von 5 Minuten festgestellt wurden:

Ausgangswert 87 mm Hg

96, 98, 96, 94, 88 mm Hg.

Der Blutdruck stieg also nach Adrenalin ebenfalls an, jedoch wurde die Höhe der Werte des Vortages nicht erreicht.

Eine nochmalige Blutdruckmessung am folgenden Tage zeigte nach der Injektion von 1 ccm Adrenalin (1:1000) subkutan nachstehende Werte:

Ausgangswert 88 mm Hg.

Ein Blutdruckanstieg war wieder festzustellen, jedoch trat die Rückkehr zur Norm schneller ein als vor der Vergiftung durch Dinitrophenol.

b. Hund Nr. 3o. 3o kg Körpergewicht.

Als Normalblutdruckwert wurde durch zweimal täglich vorgenommene Messungen 85 mm Hg festgestellt.

Nach subkutaner Injektion von o,1 g Acetylcholin ergaben die in Abständen von 5 Minuten vorgenommenen Messungen folgende Werte in mm Hg:

84, 83, 8o, 8o, 82, 84.

Nach der Injektion von Acetylcholin fiel somit der Blutdruck innerhalb von 15 Minuten auf 8o mm Hg. Nach 3o Minuten war der Normalwert fast wieder erreicht.

Nach subkutaner Injektion von 9o mg Dinitrophenol (= 3 mg/kg Körpergewicht) wurde am folgenden Tage wieder o,1 g Acetylcholin subkutan injiziert, wobei sich in Abständen von 5 Minuten folgende Werte in mm Hg. ergaben:

Ausgangswert 85 mm Hg.
83, 82, 83, 84, 84.

Nach Acetylcholin sanken die Blutdruckwerte bei Vergiftung durch Dinitrophenol nicht so weit ab wie vorher.

Ausgangswert 86 mm Hg.
81, 8o, 85 mm Hg.

Auch hier zeigte sich eine frühere Rückkehr zur Norm. Acetylcholin scheint im übrigen aber eine stärkere Wirkung zu haben, denn nach der Injektion stellte sich nach längerer Zeit Erbrechen ein.

III. Versuche an Meerschweinchen.

Zunächst wurden 1o Meerschweinchen je o,5 ccm Nitrobenzol subkutan injiziert, wovon 5 Tiere ausserdem noch 2 ccm Calciumglutaminat erhielten. Anlass zu dieser Versuchsanordnung war, dass nach Zufuhr von organischen Nitroverbindungen Acidose und Verminderung der Alkalireserve im Blut auftritt und gleichzeitig im Kot mehr Calcium ausgeschieden wird, als es normalerweise der Fall ist. Sämtliche nur mit

Nitrobenzol gespritzten Tiere gingen zugrunde, während sich 2 von den mit Nitrobenzol und Calciumglutaminat behandelten Tiere erholten.

Dinitrophenol erwies sich in einer Dosis von o,1 g als schwer toxisch, während sich bei o,o1 und o,o2 g Dinitrophenol keine sichtbaren Wirkungen einstellten. Stets kamen die durch o,o5 g Dinitrophenol vergifteten Tiere nach etwa 1o Stunden zum Exitus.

Nach Ermittlung dieser Dosis wurden Meerschweinchen o,o5 g Dinitrophenol + 5 ccm Thionin (o,1 g Thionin gelöst in 1o ccm physiologischer Kochsalzlösung) subkutan injiziert. Die Tiere überstanden jetzt die Dosis o,o5 g Dinitrophenol, machten aber in den nächsten Tagen einen benommenen und hinfälligen Eindruck.

In einem weiteren Versuch wurden o,o5 g Dinitrophenol + 5o mg Glutathion subkutan injiziert. Auch Glutathion erwies sich als antagonistisch wirksam und zwar, wie aus dem Befinden der Tiere hervorging, noch in stärkerem Maße als Thionin. Thionin sowie Glutathion erwiesen sich somit als bei Vergiftung durch Methämoglobin bildende Substanzen als Gegengifte *).

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkungsweise von Nitrit- und Nitroverbindungen untersucht. Dabei wurde folgendes festgestellt:

1. Die Kontraktion des Blutegelmuskels, die normalerweise unter dem Einfluss von Acetylcholin bezw. Sympatol erfolgt, wird durch Nitrite gelähmt. Hiernach greifen Nitrite unmittelbar an der Muskulatur an.

2. Hunde, die mit Nitriten vergiftet worden waren, waren Adrenalin bezw. Acetylcholin gegenüber weniger empfindlich als normale Tiere.

3. Die toxische Wirkung von Dinitrophenol wurde bei Meerschweinchen durch Glutathion bezw. Thionin abgeschwächt.

*) Hauschild, F.: Die Wirkung des Katalysins bei der Methämoglobinvergiftung. R 1oo,152.

L e b e n s l a u f .

Am 1. Juni 1909 wurde ich, Waldemar H a a s e, als jüngster Sohn des Postinspektors Heinrich Haase und seiner Ehefrau Auguste, geb. Wessel in Itzehoe (Holstein) geboren. Nachdem ich die Volks- und Mittelschule in Rotenburg (Hannover) besucht hatte, ging ich auf das Realgymnasium in Bremen, wo ich am 1. März 1929 die Reifeprüfung ablegte. Von 1929-1932 war ich als Redaktionsgehilfe in einem Zeitungsverlag tätig und begann im Sommersemester 1932 das zahnärztliche Studium an der Universität Rostock. Nach 2 semestrigem Studium ging ich die nächsten drei Semester nach Kiel, wo ich am 8. Mai 1934 das Vorexamen bestand. Nach Aufhebung der Universitätszahnklinik in Kiel beendete ich mein Studium an der Hansischen Universität in Hamburg und erhielt hier am 2. Okt. 1936 die Approbation als Zahnarzt. Seitdem bin ich als Assistent bezw. Vertreter in der freien Praxis tätig.